云 南 植 物 研 究 1996; **18** (3): 341～344
Acta Botanica Yunnanica

福录考体细胞胚胎发生的观察

李惠芝 庞长民 杜勇军 安利民 杨红燕
(西安植物园，西安 710061)

摘要 福录考(*Phlox drummondii* Hook)体细胞胚胎发生的方式有两种：一是由叶外植体具有一定功能的特化细胞脱分化为胚性细胞,如叶表皮细胞、维管束鞘及韧皮薄壁细胞均可发生脱分化进行分裂，形成胚性细胞或分生细胞团；二是叶外植体先脱分化形成愈伤组织，并产生许多分生组织中心，在其附近首先出现维管束系统，然后在其周围或附近产生胚性细胞或分生细胞团。通过上述两种方式形成的胚性细胞均可通过与一般合子胚相类似的发育过程，形成球形、心脏形、鱼雷形和具子叶的成熟类胚体，最后发育成具根和芽的完整植株。

关键词 福录考，体细胞胚胎发生

STUDY ON SOMATIC EMBRYOGENESIS OF PHLOX DRUMMONDII

LI Hui-Zhi, PANG Chang-Min, DU Yong-Jun, AN Li-Min, YANG Hong-Yan
(*Xi'an Botanical Garden*, Xi'an 710061)

Abstract *Phlox Drummondii* Hook, is an important and famous horticulture plant. In the experiments, embryoids were obtained when leaf explants of *P. drummondii* Hook were cultured on MS solid medium supplemented with 0.1 mg / L NAA and 2 mg / L 6-BA. The cultured materials were fixed with Carnoy's fluid and prepared for paraffin sections, and stained with iron alum haematoxylin. There were two ways in the embryogenesis: One is that the differentiated cells of leaf explants with certain function dedifferentiated into embryonic cells, e. g. leaf epidermal cells, mesophyll cells, boundle sheath cells and phloem parenchyma cells were all able to do it. The other is that, at first, leaf explants dedifferentiated into calli and formed many meristem centers, and then vascular systems occurred near them, and in the end, embryonic cells or meristem cell masses were produced around them. The embryonic cells formed through these two ways possesed a developmental process similar to general zygotic embryoes with the proembryos of 2～4 cells, ball and the embryoids of heart, torpedo or with cotyledons. The embryoid with double polarities finally developed further into the intact plantlet.

Key words *Phlox drummondii*, Somatic embryogenesis

福录考(*Phlox drummondii* Hook)属花葱科(Polemomaceae)多年生草本，是一种盆栽观赏花卉，也是一种监测氯气、二氧化硫等空气中有害气体的指示植物，有较高的经济价值，故一直受到重视。国外有人研究过在自然条件下胚胎发生及子房的离体培养(Anantaswamy, 1956; Miller 等, 1945)。本工作主要研究

1995-03-21 收稿, 1995-11-02 修回

了叶外植体的体细胞胚胎发生。

材料与方法

实验材料 接种材料及培养条件见井忠平等(1989)。观察胚状体的发育过程采用石蜡切片，叶外植体接种后分别在培养 2，3， 4，5，7，15，20，30 d 时取样, 在卡诺氏(95%乙醇：醋酸＝3：1)固定液中固定 24 h，70%的乙醇保存，铁矾-苏木精染色或番红与固绿对染。

观察结果

胚状体的起源

叶外植体接种于 MS+NAA0.1+6-BA2 的培养基上，约一个月后，除了形成单极性的不定芽外，并通过两种方式产生胚状体:

(1) 由叶器官不同成分的细胞直接脱分化为胚性细胞，经过不同发育阶段的类胚体，最后形成完整植株。

叶表皮细胞脱分化 ：在离体培养条件下，已经分化的具有一定功能的叶表皮细胞可以发生脱分化，细胞质变浓，核变大，特化为胚性细胞, 恢复分裂能力，其胚性细胞主要发生于叶的上表皮细胞(图版 Ⅰ :1)。

海绵组织细胞的脱分化 ：福录考叶外植体离体培养 4 d 后，叶肉细胞即发生变化，排列于上表皮下面的栅栏组织细胞的整齐性消失，整个叶肉细胞似乎均转化为海绵组织细胞，排列不规则，其中部分细胞可以脱分化为胚性细胞，恢复分裂，一般多发生于中脉附近的海绵组织细胞(图版 Ⅰ: 2～7)。

维管束鞘及韧皮部细胞的脱分化 ：通过显微镜观察，在许多情况下，脱分化经常发生于维管束鞘细胞(图版 Ⅰ: 8,9)，也有发生于维管束的韧皮部，但由于韧皮部薄壁细胞及其它成分原生质都比较浓，故在胚性细胞阶段不易与其它细胞区分开，只是等胚性细胞长大成为原胚，才可识别出发生的部位。

(2) 叶片细胞(包括表皮、叶肉细胞等)先脱分化形成愈伤组织，再通过胚胎发育产生植株。

叶外植体在愈伤组织形成的初期，叶片启动的部位，如栅栏组织细胞失去原有的形状，叶绿体转变为体积很小的原质体，出现弧带形类似形成层的分生组织区，不断分裂撑破表皮细胞(图版 Ⅰ: 10)形成愈伤组织，但并不是整个叶片均膨大为愈伤组织，这种脱分化一般多发生于主脉及其附近的部位，但不论在什么部位进行脱分化，愈伤组织一旦形成，即出现许多分生中心(图版 Ⅰ: 11)，并首先在分生中心出现输导组织，然后在其周围或附近产生胚性细胞，形成分生细胞团(图版 Ⅰ: 12)。这种分生细胞团沿着两个方向发育，一种即所谓的器官发生，即产生单极性不定芽，另一种是发育为胚状体。

胚状体的发育过程

福录考体细胞胚发生过程与其合子胚发生过程大致相似(Anantaswamy, 1956; Miller 等, 1945)，培养早期多呈梨形或球形(图版 Ⅰ: 4)，在其后的发育过程中，除少数原胚退化外，多数情况由于胚性细胞不断分裂长大形成 2～4 细胞并继续发育成球形原胚(图版 Ⅰ: 2,3)，球形原胚进一步分化发育成心形、鱼雷形和具胚根胚芽及子叶的成熟类胚体(图版 Ⅰ: 5～7)，最后胚芽和胚根萌发形成完整的小植株。

讨 论

(1)胚状体发生是植物体细胞的一种基本特征，胚状体是指起源于非合子细胞经过胚胎发生过程而形成的类胚结构。大量工作表明(潘景丽等, 1985; 周俊彦, 1981; 朱澄, 1978;)，在植物组织培养中，由体细胞

形成胚状体的能力是一种普遍现象。Reinert 等(1979)指出，胚状体发生的能力，可能是植物体细胞的一个基本特征。本实验发现福录考叶外植体不同结构的具有一定功能的细胞,如表皮细胞、叶肉细胞和维管束系统等，除木质化的死细胞外，几乎均可发生脱分化作用，恢复分裂形成胚性细胞或分生细胞团，充分证明该种植物叶器官中生活的薄壁细胞普遍具有胚状体发生的特征，表现出高度的形态发生的能力，只要在适宜的培养条件下其"全能性"就可以表现出来。

(2) 福录考体细胞发生的特点。在植物组织培养中诱导胚状体多数是通过外植体先诱导出愈伤组织，然后通过愈伤组织的继代和分化培养再诱导出胚状体和植株来。然而在福录考的叶器官培养中，发现其胚性细胞产生的方式有两种情况，一种是直接从叶器官的某一特化细胞脱分化为胚性细胞或分生细胞团；另一种方式是叶肉细胞的某些细胞如栅栏组织的部分细胞经过一系列的变化(失去原有排列整齐的形状，同时叶绿体脱分化为不易辨认的原质体)，形成弧带状分生组织区，继续不断分裂形成愈伤组织，并在愈伤组织中出现分生中心。我们发现在每个分生中心首先形成输导组织，然后才发现胚性细胞的产生，这种现象尚属少见，并具有一定的生物学意义，它的预先出现是为胚状体的发生及其发育准备了物质基础。

(3) 胚胎发生的稳定性。Anantaswamy(1956)在福录考的子房培养中观察了秋水仙素对其胚和胚乳柱形态发生的作用，也观察到培养条件对胚乳发生的早期具有一定的影响，胚乳核显著膨大，显示出核畸变现象，但对胚来说只是大小的区别，并没有改变胚的发育模式。Wetmore 等(1951)在维管束植物形态发生实验报告的结论中也谈到即使发育的生长速度可以变化，但各种形态发生过程的主要部分是难改变的，其发育模式是稳定的，足能抵抗营养环境外来的影响。我们的工作和其它大量有关胚状体发生的研究，都证明了胚状体发生和合子胚的发生过程是十分相似的。在其发育模式上和以上的结论是完全一致的。

致谢　承蒙潘景丽教授审阅,井忠平同志参加部分工作。

参 考 文 献

井忠平,潘景丽，李惠芝，庞长民，1989. 福录考的组织培养研究. I. 外植体的分化及植株再生. 西北大学学报(自然科学版)**19**(4):81～84

朱 澄, 1978. 植物组织培养中的胚状体. 遗传学报，**5**: 79～88

周俊彦, 1981. 植物体细胞在组织培养中产生的胚状体. I:植物体细胞的胚状体发生. 植物生理学报，**7**(4): 389～397

潘景丽，王普选，高茹兰等，1985. 沙枣(*Elaeagnus angustifolia* L.) 胚状体的产生及激素对器官发生的作用. 实验生物学报，**18**(1):1～11

Anantaswamy Rau, 1956. Studies ingrowth in vitro of excised ovaries−1. Influence of colchicine on the Embryoand Endosperm in *Phlox drummondii* Hook. *Phytomorphology*, **6**(2): 90～96

Miller H A, Wetmore R H, 1945. Studies in the developmental anatomy of *Phlox drummondii* Hook. I. *The embryo American J Bot*, **32**: 588～599

Reinert J, Bajaj Y P S, Zbell B, 1978. Aspects of organization−organogenesis,embryogenesis, cytodifferentiation. In Street(ed.) *Plant Tissue and Cell Culture* , 389～427

Wetmore R H, Wardlaw C W, 1951. Experimental morphogenesis in vascular plants. *Annu Pl Physiol* , **2**: 269～292

图版说明

1. 由表皮细胞启动形成胚性细胞或分生细胞团； 2,3. 叶肉细胞的脱分化，2～4 细胞原胚； 4. 球形原胚； 5. 心形胚状体； 6. 鱼雷形胚状体； 7. 具有胚根、胚芽和子叶分化的胚状体； 8,9. 由维管束鞘细胞启动分裂形成胚性细胞(2～4 细

胞); 10. 栅栏组织的叶绿体变为体积很小的原质体，形成类形成层细胞分生组织区； 11. 叶外植体局部组织形成愈伤组织并出现分生中心和维管系统； 12. 维管束周围出现胚性细胞或分生细胞团。

Explanation of Plates

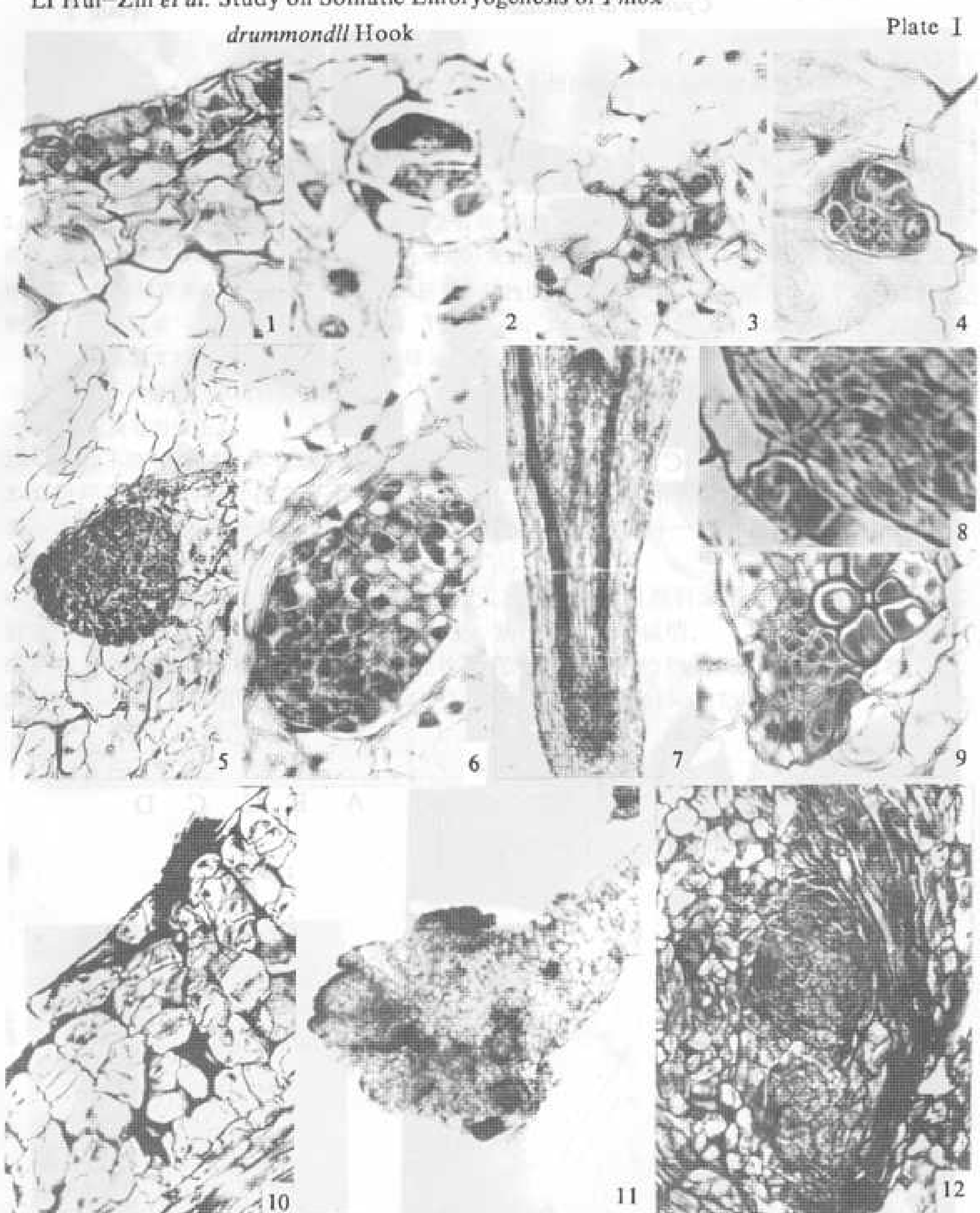
1. The leaf epidermal cell dedifferentiates into embryonic cell; 2,3. The mesophyll cell dedifferentiates into proembryos with 2～4 cells; 4. Globular proembryo; 5. Heart-shaped embryoid; 6. Torpedo-shaped embryoid; 7. Mature embryoid with plumule,radicle and two cotyledons; 8,9. The boundle sheath cells dedifferentiate into embryonic cells; 10. The palisade tissue presented in the leaf dedifferentiate into cambioid meristem cells; 11. The leaf explants dedifferentiate into calli and form many meristem centers and vascular systems; 12. The embryonic cells or meristem cell masses are produced around the boundle sheath.

* * * * * * * * * *

李惠芝等：福录考体细胞胚胎发生的观察 图版 I

LI Hui-Zhi *et al:* Study on Somatic Embryogenesis of *Phlox drummondll* Hook

Plate I



See explanation at the end of text